

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Eva Bednářová

SYNTÉZA REGIOSELEKTIVNĚ
MONOSUBSTITUOVANÝCH PROPARGYL DERIVÁTŮ
 γ -CYKLODEXTRINU

Synthesis of regioselectively monosubstituted propargyl
derivatives of γ -cyclodextrin

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Doc. RNDr. Jindřich Jindřich, CSc.

Praha 2012

Tato diplomová práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 17.května 2012.

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli doc. RNDr. Jindřichu Jindřichovi, CSc. za vedení při vypracování této bakalářské práce a pomoc při řešení problémů. Také bych ráda poděkovala svým spolupracovníkům z laboratoře 135 za vytvoření příjemného pracovního prostředí, zvláště pak RNDr. Michalu Řezankovi, Ph.D. za cenné rady, trpělivost a ochotu.

Za měření NMR, HRMS, IR spekter a optických rotací bych ráda poděkovala pracovníkům servisních laboratoří.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala celé své rodině a přátelům za všeobecnou podporu.

Obsah

Seznam zkratk a symbolů	5
1. Úvod	7
2. Cíle bakalářské práce.....	8
3. Teoretická část.....	9
3.1. Cyklodextriny	9
3.1.1. Struktura a vlastnosti	9
3.1.2. Inkluzní komplexy	11
3.2. Deriváty cyklodextrinů	12
3.2.1. Monosubstituované deriváty.....	13
3.2.2. Metody syntézy monosubstituovaných propargylderivátů cyklodextrinů... 14	
3.2.3. Metody přípravy dalších monosubstituovaných derivátů cyklodextrinů 16	
3.2.4. Metody přípravy 6 ^l -O derivátů v přítomnosti 2,6-lutidinu.....	17
3.3. Huisgenova 1,3-dipolární cykloadice	18
3.3.1. Metody přípravy cyklodextrinových derivátů pomocí Huisgenovy 1,3-dipolární cykloadice	19
4. Výsledky a diskuse	25
4.1. Monosubstituované poropargyl deriváty γ-CD	25
4.2. Huisgenova 1,3-dipolární cykloadice	28
5. Závěr	30
6. Experimentální část	31
6.1. Použité přístroje a chemikálie.....	31
6.2. Pracovní postupy	33
Seznam literatury	38

Seznam zkratek a symbolů

$[\alpha_D]^{20}$	specifická rotace při 20 °C a 589 nm v $10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$
Ac	acetyl
APT	„attached proton test“
Bn	benzyl
CD	cyklodextrin
CGTáza	cyklomaltodextrin glukosyltransferáza
COSY	„correlation spectroscopy“
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
ekv.	ekvivalent
Et	ethyl
HMBC	„heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy“
HPLC	„high-performance liquid chromatography“ (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
HRMS	„high-resolution mass spectrometry“ (hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením)
HSQC	„heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy“
IR	„infrared spectroscopy“ (infračervená spektroskopie)
<i>J</i>	interakční konstanta v jednotkách Hz
konc.	koncentrovaný
l. t.	laboratorní teplota
lit.	literatura
MALDI	„matrix-assisted laser desorption/ionization“
Me	methyl
Ms	methansulfonyl
MW	„microwaves“ (mikrovlny)
MWR	„microwave reactor“ (mikrovlnný reaktor)
NMR	nukleární magnetická rezonance
obr.	obrázek
Pr	propyl
rozp.	rozpouštědlo
RVO	rotační vakuová odparka

TBDMS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
THF	tetrahydrofuran
TLC	„thin layer chromatography“ (tenkovrstevná chromatografie)
t_t	teplota tání v jednotkách °C
UV	ultraviolet (ultrafialová)
UZ	ultrazvuk
δ	chemický posun v ppm
λ	vlnová délka v nm
ν	Larmorova frekvence v MHz
$\tilde{\nu}$	vlnočet v cm^{-1}

1. Úvod

Cyklodextriny (CD) jsou cyklické oligosacharidy složené z D-glukopyranosových jednotek spojených $\alpha(1\rightarrow4)$ glykosidickou vazbou¹. Nejvíce využívanou vlastností cyklodextrinů je jejich schopnost vytvářet inkluzní komplexy (hostitel-host) s řadou lipofilních molekul vhodné velikosti. Tato schopnost je dána tvarem komolého kužele s dutinou uprostřed, který molekula cyklodextrinu zaujímá v prostoru².

Díky dalším vlastnostem, jako je nízká toxicita a snadná biologická degradabilita, a i díky stále se zdokonalující průmyslové výrobě z obnovitelných zdrojů (škrob)³, nachází cyklodextriny čím dál větší uplatnění v mnoha odvětvích průmyslu – kosmetickém, textilním, potravinářském, farmaceutickém i chemickém⁴.

Vlastnosti cyklodextrinů však nejsou pro všestranné použití ideální. Nejvíce limitující vlastností je především nízká rozpustnost β -CD a také malá selektivita komplexace. Možností jak řešit tento problém je jejich chemická derivatizace. Příprava vhodných derivátů, které navíc lze dále modifikovat, tak rozšíří možnosti jejich dalšího využití například jako vhodných chirálních selektorů v analytické chemii⁵, jako modelů enzymů schopných katalyzovat reakce⁶ nebo jako součástí chemosenzorů⁷.

2. Cíle bakalářské práce

Cílem této bakalářské práce je příprava kompletní sady monosubstituovaných derivátů propargyl- γ -cyklodextrinu, které mohou být vhodnými prekurzory pro další modifikaci, čímž se rozšíří možnosti dalšího využití cyklodextrinů.

Koncová trojná vazba propargylové skupiny je vhodná pro syntézu dalších sloučenin pomocí Huisgenovy 1,3-dipolární cykloadice tzv. „click reakce“.

Cíle lze shrnout do následujících bodů:

- Nalezení vhodných reakčních podmínek pro syntézu 2^l-O, 3^l-O a 6^l-O-propargyl- γ -cyklodextrinů.
- Ověření možnosti přípravy dalších sloučenin z těchto prekurzorů pomocí „click reakce“.

3. Teoretická část

3.1. Cyklodextriny

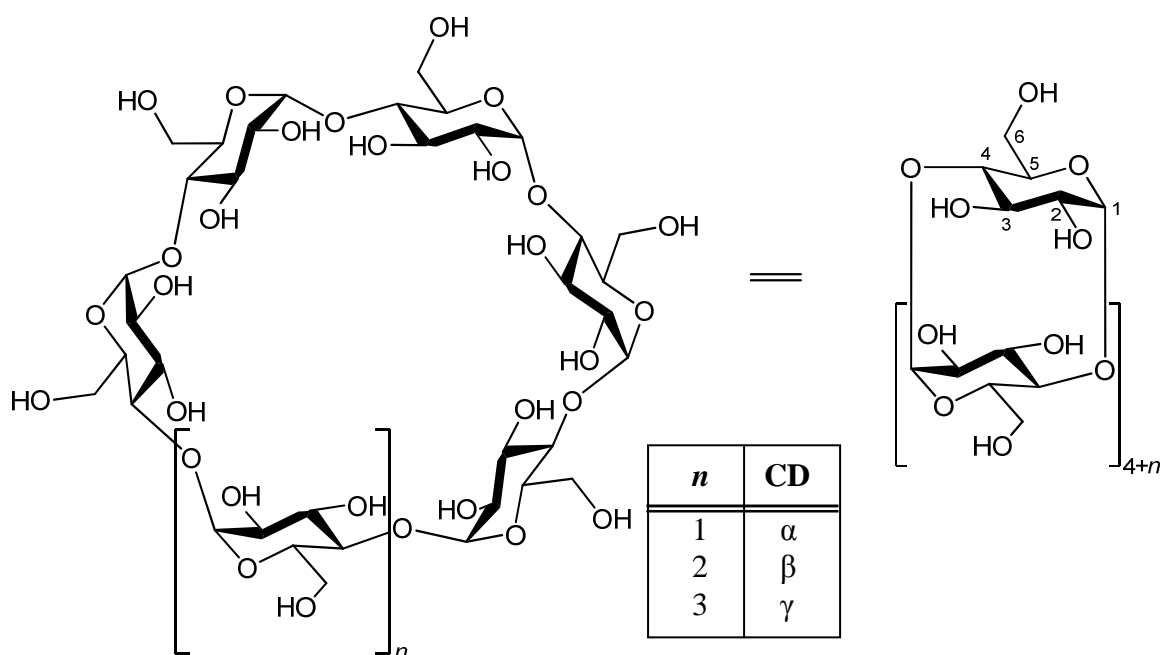
Cyklodextriny byly poprvé popsány Villiersem⁸ v roce 1891, jako krystalické látky vznikající enzymatickou degradací škrobu pomocí *Bacillus amylobacter*. Díky svým vlastnostem podobným celulóze byly nazvány „celulosin“. Na tuto práci navázal Schardinger⁹, který ve své publikaci popisuje kromě vzniku také schopnosti cyklodextrinů tvořit komplexy s některými látkami. Touto jejich pozoruhodnou vlastností se později detailněji zabýval Pringsheim¹. Kompletní cyklickou strukturu CD však popsal až v druhé polovině 30. let 20. století Freudenberg¹⁰, který tyto látky pojmenoval „Schardingerovy dextriny“.

Od té doby vědecký zájem o cyklodextriny stoupal, což dokazuje velká řada přehledných článků a monografií, které byly doposud publikovány, a také jejich stále se rozšiřující uplatnění v mnohých odvětvích průmyslu.

3.1.1. Struktura a vlastnosti

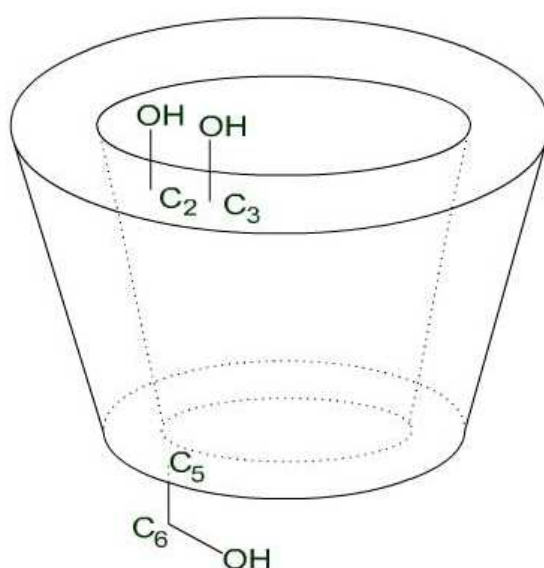
Cyklodextriny¹¹ jsou bílé krystalické látky. Jak už jejich název napovídá, jedná se o cyklické oligosacharidy. Jejich základními stavebními jednotkami jsou D-glukopyranosy v židličkové konformaci 4C_1 , které jsou do kruhu vzájemně spojeny $\alpha(1\rightarrow4)$ glykosidickou vazbou. K tomuto spojení dochází při enzymatické degradaci amylázy účinkem glykosyltransferáz (konkrétně cyklomaltodextrin glykosyltransferázami – CGTázami), které jsou bakteriálního původu (*Bacillus macerans* a další).

Dle počtu glukopyranosových jednotek v kruhu označujeme cyklodextriny názvy α -CD (6 jednotek), β -CD (7 jednotek) a γ -CD (8 jednotek) (viz obr. 1). Kromě těchto nejběžnějších cyklodextrinů, které jsou komerčně dostupné, byl také syntetizován kruh s 5 glukopyranosami, který byl označen pre- α -CD. Známé jsou také cykly s 9 a více (až sto) jednotkami. Se vzrůstajícím počtem glukos v cyklu však schopnost udržovat kruhový tvar cyklodextrinů klesá a jejich konformace stále více připomíná levotočivou šroubovici škrobu.



Obr. 1: Struktura molekuly cyklodextrinů.

Molekula cyklodextrinu zaujímá v prostoru tvar dutého komolého kužele (viz obr. 2), na jehož vnějším širším okraji se nacházejí sekundární hydroxylové skupiny (OH skupiny v polohách 2 a 3 glukosové jednotky), zatímco na užším okraji jsou umístěny primární hydroxylové skupiny (OH skupiny na 6. uhlíku glukosové jednotky). Uvnitř kavity se nacházejí nepolární C-H vazby vodíků H-3, H-5 a H-6 a etherické kyslíky glykosidické vazby, což způsobuje lipofilitu dutiny, zatímco polární hydroxyly na okrajích umožňují rozpustnost cyklodextrinů ve vodě a jiných polárních rozpouštědlech.



Obr. 2: Tvar cyklodextrinu v prostoru¹².

Rigidní charakter molekuly cyklodextrinu je dán možností vzniku intramolekulárních vodíkových můstků. Tyto vazby mohou vzniknout mezi hydroxylovými skupinami uhlíků C-2 a C-3 sousedních glukopyranosových jednotek.

Rozměry α -, β - a γ -CD a také některé jejich vlastnosti shrnuje tabulka 1.

Tabulka 1: Rozměry a vlastnosti α -, β - a γ -CD^{3,13,14}.

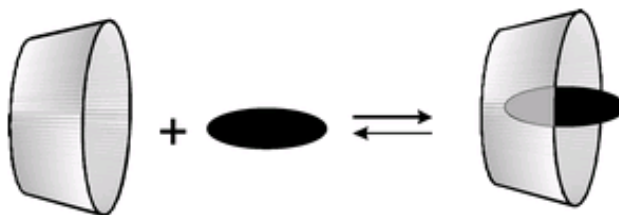
CD	α -	β -	γ -
Počet glukosových jednotek	6	7	8
Molekulová hmotnost / g mol⁻¹	972,85	1134,99	1297,14
Rozpustnost ve vodě při 25 °C / g dm⁻³	14,5	1,85	23,2
Průměr kavity (mezi H-3) / Å	5,2	6,4	8,3
Průměr kavity (mezi H-5) / Å	4,7	6,0	7,5
Hloubka kavity / Å	7,9–8,0	7,9–8,0	7,9–8,0
Vnitřní objem kavity / Å³	174	262	472
Optická rotace / °	+150,5	+162,5	+177,4
Krystalová voda / % (w/w)	10,2	13,2–14,5	8,1–17,7
pK_a při 25 °C (dle potenciometrie)	12,33	12,20	12,08

Cyklodextriny jsou stabilní v alkalických roztocích, nicméně v kyselém prostředí podléhají hydrolýze. Produkty částečné kyselé hydrolýzy jsou glukosa a směs acyklických maltodextrinů. Zda však štěpení proběhne, závisí na kyselosti a teplotě roztoku. Při běžných experimentálních podmínkách (pH vyšší než 3,5 a teplota nižší než 60 °C) jsou ale CD relativně stabilní.

Odolnost vůči účinkům ultrafialového, viditelného i infračerveného záření je vysoká, při interakci β - a γ -CD s γ -zářením však dochází k rozštěpení glykosidické vazby, a tak ke zhroucení celého cyklu.

3.1.2. Inkluzní komplexy

Schopnost cyklodextrinů vytvářet inkluzní komplexy je jejich velmi využívanou vlastností¹⁵. Obecně se inkluzní komplexy skládají z hostitele (v našem případě CD), který ve své struktuře obsahuje kavitu, do které může přijmout hosta (viz obr. 3).



Obr. 3: Vznik inkluzního komplexu¹⁶.

Dutina cyklodextrinu je díky svému nepolárnímu charakteru vhodná pro inkluzi lipofilních látek, které co nejpřesněji kopírují její vnitřní strukturu a zároveň obsahují i hydrofilní části schopné interagovat s hydroxylovými skupinami primárního nebo sekundárního okraje CD. Naopak nejméně vhodnými rozpouštědly pro kavitu jsou polární rozpouštědla, obzvláště pak voda.

Stechiometrie vznikajícího komplexu hostitel-host nemusí být vždy pouze striktně 1:1, časté jsou i poměry 1:2, 2:1 a 2:2 (lit.¹³) Složitější supramolekulární struktury odvozené od CD lze nalézt v rotaxanech a polyrotaxanech^{17,18}.

Uzavřením hostující látky v kavitu dochází ke změně jejích vlastností, čehož se využívá v průmyslu. Mezi tyto využívané vlastnosti patří zvýšení rozpustnosti a stability léčiv a jiných látek ve farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu⁴. Díky změnám spektrálních dat (např. IR, NMR...) obou členů komplexu se CD používají při konstrukci chemosenzorů⁷. Reaktivita hostitele se ve většině případů zmenšuje, ve speciálních případech však mohou CD reakce katalyzovat a fungovat tak jako umělé enzymy⁶.

Tvorba inkluzních komplexů také našla uplatnění v analytické chemii, kde se cyklodextriny používají jako chirální selektory přítomné ve stacionární nebo mobilní fázi v chromatografických¹⁹ i elektromigračních technikách⁵.

3.2. Deriváty cyklodextrinů

Jak již bylo zmíněno výše, vlastnosti cyklodextrinů nejsou ideální pro široké použití. Způsobem jak rozšířit využití CD je jejich chemická derivatizace, která vzhledem k 18 (α -CD), 21 (β -CD) a 24 (γ -CD) přítomným hydroxylovým skupinám (které je možno modifikovat) představuje „neomezené“ možnosti syntézy nových látek žádoucích vlastností. Dodnes byla popsána příprava velkého množství derivátů CD, většina z nich však vzhledem k jejich komplikované syntéze nikdy nenašla uplatnění¹. Aby bylo možné derivát bez velkých nákladů průmyslově syntetizovat, měl by vznikat jednoduchou reakcí, být netoxický, zachovávat komplexační vlastnosti CD a zvyšovat možnosti specifických aplikací. Komerčně využívané deriváty CD našly své uplatnění především v chemickém průmyslu pro chromatografické a diagnostické účely nebo jako intermediáty pro další syntézy.

Reakcí CD s derivatizačním činidlem dochází k modifikaci hydroxylových skupin. Tím vzniká směs izomerů s různým stupněm substituce (mono-, di-, tri- i vícesubstituované deriváty). Tyto izomery se dále mohou lišit jak polohou substituentu/ů

v rámci jedné glukosové jednotky (2¹-O, 3¹-O a 6¹-O deriváty), tak i v rámci glukosových jednotek celého cyklodextrinu¹⁵.

Pro získání chemicky čistých individuál je tuto směs nutné separovat, což není jednoduchý úkol. Spolu s počtem derivátů roste i nesnadnost jejich izolace. I z tohoto důvodu je tedy vhodná příprava monosubstituovaných derivátů, které jsou pouze tři.

3.2.1. Monosubstituované deriváty

Monosubstituované deriváty¹³ vznikají z CD elektrofilní substitucí vodíku jediné hydroxylové skupiny. Nicméně velké množství hydroxylů ve třech rozdílných pozicích CD silně znesnadňuje reakci cílené OH skupiny. Postupy pro regioselektivní modifikaci CD využívají rozdílných vlastností hydroxylových skupin v různých polohách.

Hydroxylová skupina v poloze 2 je nejkyslejší. Při přidavku právě takového množství báze, kdy se na každém CD deprotonuje pouze jediná OH skupina (ekvivalentní množství vzhledem k CD), se tato skupina zbavuje kationtu vodíku (H⁺) jako první. Elektronová hustota se soustřeďuje na kyslíkovém atomu, který je díky tomu nejsnadněji napadán elektrofilními činidly.

Selektivní alkylace hydroxylu v poloze 3 je velice obtížná z důvodu nejmenší přístupnosti, a tedy i reaktivity této OH skupiny. Pro získání těchto derivátů se ve většině případů musíme spokojit s nízkými výtěžky, které vznikají jako vedlejší produkty při syntézách 2¹-O nebo 6¹-O derivátů. Výjimkou je syntéza, kdy alkylačním činidlem je molekula schopná se inkludovat do kavity CD a svou reaktivní částí směřovat k hydroxylu v poloze 3. Příkladem takovéto syntézy je reakce cinnamylbromidu s β-CD²⁰.

Hydroxylová skupina v poloze 6 je nejvíce bazická, navíc je zároveň díky svému umístění na primárním okraji nejvíce přístupná, tedy nejvíce reaktivní. Přednostní substituce vodíku tohoto hydroxylu tedy probíhá v silně bazickém prostředí, kdy na všech hydroxylech CD dochází k deprotonaci a OH skupina v poloze 6 je tak privilegována z důvodu její nejlepší přístupnosti.

Kromě regioselektivní substituce konkrétního hydroxylu lze monosubstituované deriváty získat také ochráněním všech přednostněji reagujících OH skupin jinými substituenty a následnou modifikací na námi požadovaném hydroxylu²¹. Na závěr se provede odstranění chránících skupin. Tato metoda je časově náročná, i tak ale stále často využívána.

3.2.2. Metody syntézy monosubstituovaných propargylderivátů cyklodextrinů

V minulosti bylo publikováno několik prací, kde autoři popisují postup syntézy propargylových derivátů CD. Většina těchto syntéz (s jedinou výjimkou) je založena na přípravě těchto derivátů po sérii ochraňujících kroků. Pro získání takových derivátů, kdy je substituován vodík pouze jediné OH skupiny propargylem a zbytek hydroxylů je nesubstituován, by musela následovat série operací odstraňující tyto chránící skupiny. Nejvíce propargylových derivátů je známo od β -CD, méně od α -CD a od γ -CD byla zatím syntetizována pouze jediná sloučenina.

2^I-O-propargyl deriváty CD

2^I-O-propargyl- β -cyklodextrin byl připraven²² reakcí β -CD v bezvodém DMSO s propargylbromidem při teplotě 55 °C. Jako báze byl použit hydrid lithný, katalyzátorem reakce byl jodid lithný. Autoři nepopisují vznik jiných polohových izomerů, ani tento experiment neobsahuje kroky k jejich separaci. Produkt byl získán ve výtěžku 39 %.

Dalšími monosubstituovanými propargyl deriváty CD jsou hexakis-6^{I-VI}-O-*terc*-butyldimethylsilyl-2^I-O-propargyl- α -cyklodextrin, heptakis-6^{I-VII}-O-*terc*-butyldimethylsilyl-2^I-O-propargyl- β -cyklodextrin a oktakis-6^{I-VIII}-O-*terc*-butyldimethylsilyl-2^I-O-propargyl- γ -cyklodextrin. V publikacích²³⁻²⁷ se z těchto derivátů nejvíce objevuje derivát β -CD. Pokud se pokusíme vysledovat, kdo jako první tuto molekulu syntetizoval, dostáváme se do slepé uličky. Všichni autoři se odkazují na publikaci²⁸ z roku 2006, ve které však příprava tohoto derivátu není popsána. Jako první tuto sloučeninu v publikaci²³ charakterizoval v roce 2007 Barge et al., výtěžek reakce činil 40 %, konkrétní podmínky reakce ale uvedeny nejsou. Popis syntézy publikoval²⁶ později v tomtéž roce Trotta et al. Heptakis-6^{I-VII}-O-*terc*-butyldimethylsilyl-2^I-O-propargyl- β -cyklodextrin v 40% výtěžku byl připraven nejprve ochráněním hydroxylů v poloze 6 pomocí *terc*-butyldimethylsilylchloridu. Alkylace probíhala reakcí heptakis-6^{I-VII}-O-*terc*-butyldimethylsilyl- β -cyklodextrinu s propargylbromidem v bezvodém THF za přítomnosti hydridu lithného. Autoři zde popisují také vznik 3^I-O derivátu bez dalších údajů. V roce 2008 Cravotto et al. uvedl²⁶ přípravu této sloučeniny stejným způsobem. Jako rozpouštědlo použil směs bezvodého THF a DMSO v poměru 1:1, výtěžek reakce ale neuvedl. V této publikaci jsou také popsány přípravy těchto α - a γ -CD derivátů stejným způsobem. Výtěžky i charakterizace však chybí. Hexakis-6^{I-VI}-O-*terc*-butyldimethylsilyl-2^I-O-

propargyl- α -cyklodextrin a oktakis-6^{I-VIII}-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2^I-*O*-propargyl- γ -cyklodextrin syntetizoval²⁷ v roce 2009 Aime et al. stejným způsobem jako Trotta et al.²⁴ s výtěžky 44 % (derivát α -CD) a 52 % (derivát γ -CD).

3^I-*O*-propargyl deriváty CD

Prozatím nebyla publikována žádná syntéza monosubstituovaného 3^I-*O*-propargyl derivátu CD.

6^I-*O*-propargyl deriváty CD

Per-*O*-methyl-6^I-*O*-propargyl- β -cyklodextrin byl připraven²⁹ reakcí propargyl alkoholu s per-*O*-methyl-6^I-*O*-*p*-tosyl- β -cyklodextrinem v bezvodém DMF. Přítomnou bází byl hydrid sodný. Produkt vznikal ve výtěžku 49 %. Ve stejné publikaci byl popsán i druhý způsob přípravy, kdy per-*O*-methyl-6^I-*O*-propargyl- β -cyklodextrin vzniká reakcí ikosa-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{II-VII}-*O*-methyl- β -cyklodextrinu a propargylbromidu v bezvodém DMF za katalýzy tetrabutylamoniumjodidem. Funkci báze plní v této reakci hydrid sodný. Produkt tentokrát vznikal v 65% výtěžku.

Syntéza per-*O*-benzyl-6^I-*O*-propargyl- α - a β -cyklodextrinu byla provedena³⁰ v DMF za přítomnosti hydridu sodného jako báze reakcí heptadeka-2^{I-VI},3^{I-VI},6^{II-VI}-*O*-benzyl- α -cyklodextrinu, resp. ikosa-2^{I-VII},3^{I-VI},6^{II-VI}-*O*-benzyl- β -cyklodextrinu s propargylbromidem ve výtěžcích 93 % (derivát α -CD) a 88 % (derivát β -CD).

Hexadeka-2^{I-VI},3^{I-VI},6^{II,III,V,VI}-*O*-benzyl-6^I-*O*-propargyl- α -cyklodextrin byl připraven³¹ reakcí hexadeka-2^{I-VI},3^{I-VI},6^{II,III,V,VI}-*O*-benzyl- α -cyklodextrinu s propargylbromidem v bezvodém THF. Bází v této reakci katalyzované tetrabutylamoniumbromidem je hydrid lithný. Výtěžek reakce je 72 %. Methansulfonylací této sloučeniny byl připraven hexadeka-2^{I-VI},3^{I-VI},6^{II,III,V,VI}-*O*-benzyl-6^{IV}-*O*-methansulfonyl-6^I-*O*-propargyl- α -cyklodextrin.

Nonadeka-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{II,III,V,VI,VII}-*O*-benzyl-6^I-*O*-propargyl- β -cyklodextrin byl připraven³² reakcí nonadeka-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{II,III,V,VI,VII}-*O*-benzyl- β -cyklodextrinu s propargylbromidem v THF ve výtěžku 75 %. Bází v této reakci byl hydrid draselný a katalyzátorem tetrabutylamoniumjodid. *Terc*-butyldimethylsilylací této sloučeniny byl připraven nonadeka-2^{I-VII},3^{I-VII},6^{II,III,V,VI,VII}-*O*-benzyl-6^{IV}-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6^I-*O*-propargyl- β -cyklodextrin.

Prozatím nebyl publikován žádný 6^I-*O* derivát γ -CD.

3.2.3. Metody přípravy dalších monosubstituovaných derivátů cyklodextrinů

Regioselektivní substituce cyklodextrinů je intenzivně řešenou tematikou. Bylo vyvinuto několik metod, které poskytují syntézu 2¹-O, 3¹-O a 6¹-O derivátů CD přímou alkyací. Tyto metody se osvědčily při přípravě allyl derivátů, tedy derivátů CD, které se liší od propargyl derivátů pouze v násobnosti koncové vazby.

2¹-O deriváty CD

Reakční podmínky, které poprvé popsal³³ Hanessian et al., byly několikrát úspěšně použity pro syntézu širokého spektra derivátů CD v relativně vysokých výtěžcích. V této publikaci je popsán vznik 2¹-O a 6¹-O derivátů allyl- α -CD v poměru 4:1. Tato popsaná skutečnost však byla zpochybněna v práci jiného autora¹⁴, kde je uveden vznik 2¹-O a 3¹-O derivátů α -CD ve stejném poměru. V rámci stejné práce byla popsána nezávislost této metody na reakční teplotě.

Příprava 2¹-O derivátů probíhala^{33,34} reakcí příslušného CD s allylbromidem při teplotě 55 °C za katalýzy jodidem lithným v DMSO, bází byl hydrid lithný. Výtěžek reakce pro 2¹-O derivát činil 32 % (derivát α -CD) a 27 % (derivát β -CD).

3¹-O deriváty CD

Reakční podmínky poprvé publikované²⁰ pro syntézu 3¹-O-cinnamyl- β -cyklodextrinu využívající tvorbu inkluzního komplexu β -CD s cinnamylbromidem, jehož reaktivní část směřuje k hydroxylové skupině CD v poloze 3, byly úspěšně použity³⁶ i pro syntézu 3¹-O-allyl derivátu α -CD. Tento produkt vzniká minoritně ve výtěžku 10 %, zatímco majoritním produktem je 2¹-O-allyl- α -cyklodextrin vznikající v 17% výtěžku. Přesto tato příprava 3¹-O-allyl derivátu zatím poskytuje nejvyšší výtěžek.

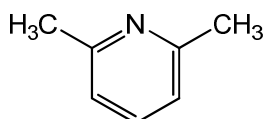
Reakce probíhala ve směsi acetonitril:voda (4:1) reakcí α -CD s příslušným alkylbromidem v prostředí hydroxidu sodného (2 ekv.). Výsledné produkty byly získány ve výtěžcích 32 % (cinnamyl derivát) a 10 % (allyl derivát).

6¹-O deriváty CD

Metoda přípravy 6¹-O derivátů je založena na největší reaktivitě OH skupiny v poloze 6 v silně bazickém prostředí. Ve vodném roztoku hydroxidu sodného (33 ekv.) byly připraveny³⁵ allyl deriváty α -, β - i γ -CD reakcí allylbromidu a příslušného CD ve výtěžcích 14% (derivát α -CD), 17 % (derivát β -CD) a 18 % (derivát γ -CD).

3.2.4. Metody přípravy 6^I-O derivátů v přítomnosti 2,6-lutidinu

V řadě publikací je pro syntézu derivátů CD využíváno 2,6-lutidinu (viz obr. 4), který díky svým vlastnostem má v reakční soustavě zároveň funkci rozpouštědla a báze. Byly také publikovány práce popisující syntézu 3^I-O a 2^I-O derivátů CD, které ale vznikají až po ochránění primárních hydroxylů. Přednostní derivatizace cyklodextrinů je totiž směřována do polohy 6. Výtěžky produktů reakcí ve 2,6-lutidinu výrazně převyšují výtěžky reakcí v jiných rozpouštědlech.



Obr. 4: Struktura 2,6-lutidinu.

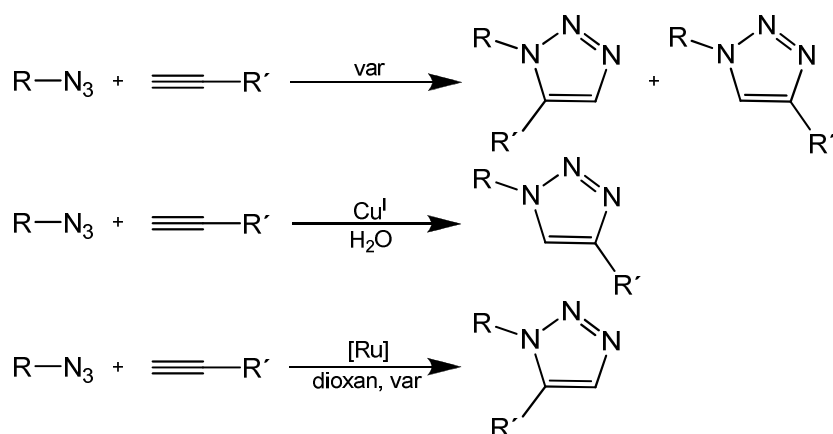
6^I-O-(4-methylamino-3-nitrobenzyl)- α -cyklodextrin byl připraven³⁷ reakcí 4-methylamino-3-nitrobenzylchloridu a α -CD ve 2,6-lutidinu. Výtěžek reakce probíhající při 150 °C v argonové atmosféře byl 34 %.

Za stejných podmínek byl reakcí 1-brommethylpyrenu s α -CD ve 2,6-lutidinu připraven³⁸ 6^I-O-(pyrenylmethyl)- α -cyklodextrin v 30% výtěžku a reakcí 1-brommethyl anthracenu s β -CD ve směsi 2,6-lutidinu a bezvodého DMF byl připraven³⁹ 6^I-O-(anthracenylmethyl)- β -cyklodextrin ve výtěžku 25 %.

3.3. Huisgenova 1,3-dipolární cykloadice

Huisgenova 1,3-dipolární cykloadice⁴⁰ patří do skupiny reakcí, které se označují jako tzv. „click reakce“. Tento termín poprvé použil⁴¹ K. B. Sharpless a označuje jím reakce, jejichž produkty jsou jednoduše syntetizovatelné, stereospecifické a vznikají ve vysokých výtěžcích. Tyto reakce mohou probíhat v běžných rozpouštědlech a vznikají při nich pouze takové vedlejší produkty, které mohou být ze směsi odstraněny bez použití chromatografie.

Huisgenova reakce je exergonický proces, který spojuje dvě nenasycené molekuly za tvorby pětičlenného cyklu. Nejběžnější a také nejvíce používanou reakcí je spojení azidu a alkynu za vzniku 1,2,3-triazolu (dále je Huisgenovou reakcí myšlena právě tato cykloadice). Za varu bez použití katalyzátoru poskytuje tato reakce dva regioizomery v poměru většinou přibližně 1:1. Pokud je reakce provedena za katalýzy mědi v oxidačním čísle I, produktem je 1,4-disubstituovaný triazol, naopak pokud je při katalýze použito ruthenium, vzniklým produktem je 1,5-disubstituovaný triazol (viz obr. 5)⁴².



Obr. 5: Huisgenova cykloadice.

Výše popsané reakce z důvodu jejich relativní jednoduchosti a vysokých výtěžků našli své uplatnění v mnohých odvětvích^{43,44}. Vzhledem k tomu, že zejména mědi katalyzovaná 1,3-dipolární cykloadice splňuje základní tři podmínky „ideální syntézy“ tj. efektivita, všestrannost a selektivita, je právě tato metoda nejpoužívanější v oblasti medicínální chemie⁴⁴.

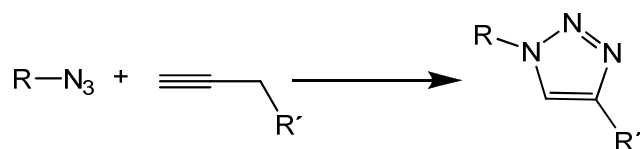
3.3.1. Metody přípravy cyklodextrinových derivátů pomocí Huisgenovy 1,3-dipolární cykloadice

Huisgenova reakce je reakcí v sacharidové resp. cyklodextrinové chemii často uplatňovanou. Tato reakce se používá pro navázání cyklodextrinových jednotek na částice stacionární fáze pro HPLC a jiné separační metody^{45,46} nebo na micelární částice, které mají následně uplatnění ve farmaceutickém průmyslu⁴⁷. Dále pak tato reakce nachází využití pro vzájemné spojování cyklodextrinových jednotek, které se následně používají jako chemosenzory⁴⁸ nebo kontrastní látky pro medicínální diagnostiku pomocí magnetické rezonance²⁷. Vzájemným spojováním také vznikají celé sítě CD jednotek, které mohou najít uplatnění jako molekulární lešení³¹.

Byla již publikována celá řada prací, jejichž autoři popisují syntézy derivátů CD pomocí Huisgenovy cykloadice. Ve většině případů však autoři spojují CD, jejichž jedna^{47,49} (v některých případech i několik⁴⁸) hydroxylová skupiny byla nahrazena skupinou azidovou (N_3), s necyklodextrinovou molekulou obsahující jednu nebo více koncových trojných vazeb⁵⁰. To je dáno jednodušším zavedením azidové než propargylové skupiny (nebo jiné skupiny obsahující trojnou vazbu) do molekuly CD. Těmto syntézám vzhledem k zaměření této práce nebude dále věnována pozornost.

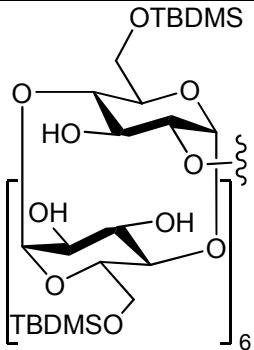
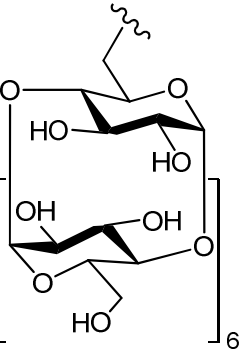
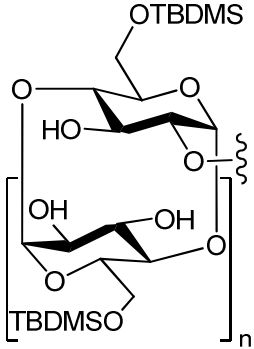
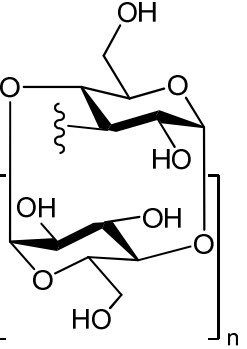
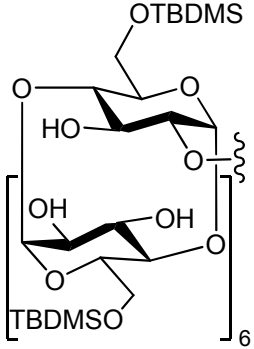
Cintas et al. v roce 2007 publikoval²⁵ práci, ve které se zabýval vlivem rozdílných reakčních podmínek námi zkoumané cykloadice na výtěžky produktů. Posuzoval tři katalyzátory: Cu^{II} ve směsi s askorbátem, Cu^{II} ve směsi s uhlíkem a Cu^I ve směsi s uhlíkem, přičemž se nejlépe osvědčil první z nich. Dále pak Cintas et al. porovnával²⁵ výtěžky a rychlost reakce při pouhém zahřívání, při zahřívání v mikrovlnném reaktoru (MWR) a při zahřívání v MWR za současného působení ultrazvuku. Použití mikrovln výrazně zvýšilo výtěžky reakce (až trojnásobně) za současného zkrácení reakční doby (až dvanáctkrát).

Obrázek 6 a tabulka 2 shrnují publikované Huisgenovy 1,3-dipolární cykloadice při kterých vzniká 1,2,3-triazolový derivát substituovaný v polohách 1 a 4 a výchozí látkou je propargylový derivát cyklodextrinu. Cintas et. al. předpokládal možné využití těchto látek pro diagnostické účely.

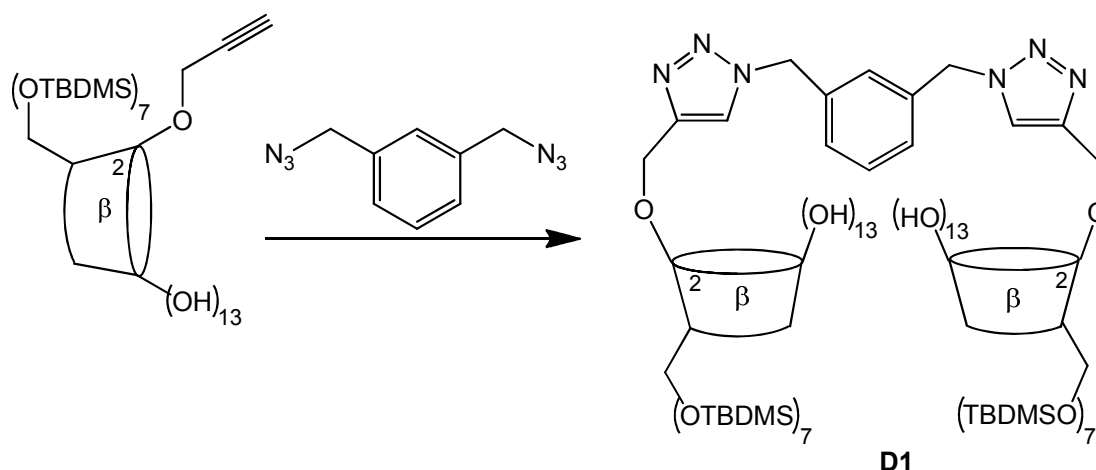


Obr. 6: Obecné schéma derivatizace pomocí 1,3-dipolární cykloadice.

Tabulka 2: Derivatizace pomocí 1,3-dipolární cykloadice.

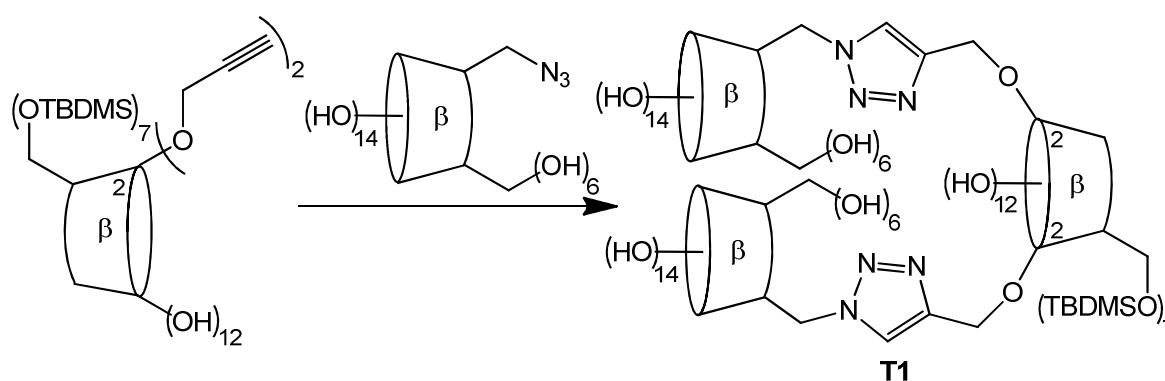
R	R'	n	Lit.	Reakční podmínky	Katalyzátor	Výtěžek / %
$\text{H}_3\text{C}(\text{CH})_{16}-$		—	25	80 °C MWR 20 min	$\text{Cu}^{\text{I}}/\text{C}$	60
		5	26	85 °C MWR 40 min	$\text{Cu}^{\text{II}}/\text{askorbát}$	43
		6				64
		7				50
		5	26	85 °C MWR 40 min	$\text{Cu}^{\text{II}}/\text{askorbát}$	62
		6				52
		7				68

Aime et al. použil²⁷ pro syntézu dimeru* **D1** reakcí heptakis(6^{I-VII}-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)-2^I-*O*-propargyl- β -cyklodextrinu a 1,3-bis(azidomethyl)benzenu také 85 °C a 40 minut v MWR za katalýzy směsí síran měďnatý/askorbát (viz obr. 7[†]). Tato reakce probíhala ve výtěžku 75 %.



Obr. 7: Syntéza dimeru **D1**.

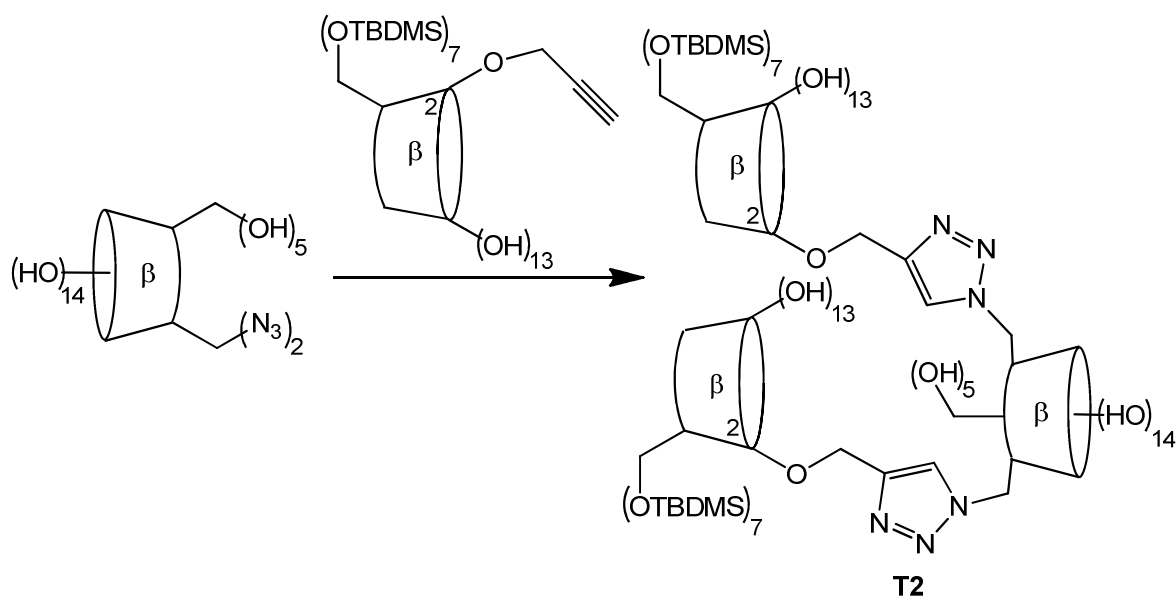
Ve stejné publikaci byly popsány syntézy také dvou trimerů (**T1** a **T2**) za stejných podmínek jako v předchozím případě. Schémata syntéz jsou na obr. 8 a obr. 9. První trimer (obr. 8) byl za daných podmínek připraven v 68%, druhý (obr. 9) pak v 73% výtěžku. Dimer **D1** a trimery **T1** a **T2** byly syntetizovány za účelem jejich dalšího využití jako umělých enzymů nebo po inkluzi chelátů jako kontrastních látek pro NMR spektrometrii.



Obr. 8: Schéma přípravy trimeru **T1**.

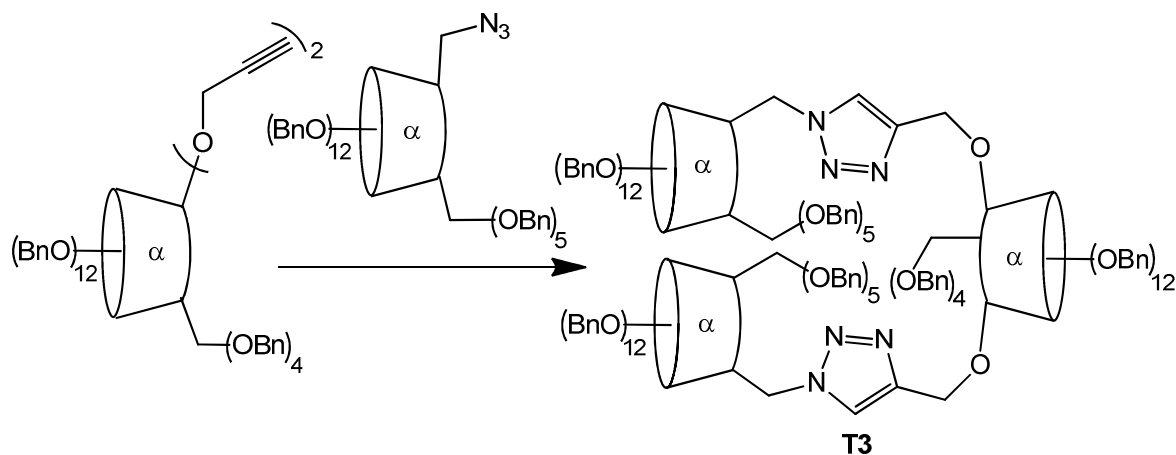
* V následujících kapitolách jsou použity termíny „dimer“ a „trimer“ pro vyjádření, že daná sloučenina obsahuje dvě a tři CD jednotky.

[†] Ve schématech jsou struktury cyklodextrinů pro lepší přehlednost znázorněny pouze jako komolé kužely. Pokud je substituována hydroxylová skupina na sekundárním okraji cyklodextrinového skeletu, její přesná poloha je označena u příslušné vazby v cyklodextrinu.

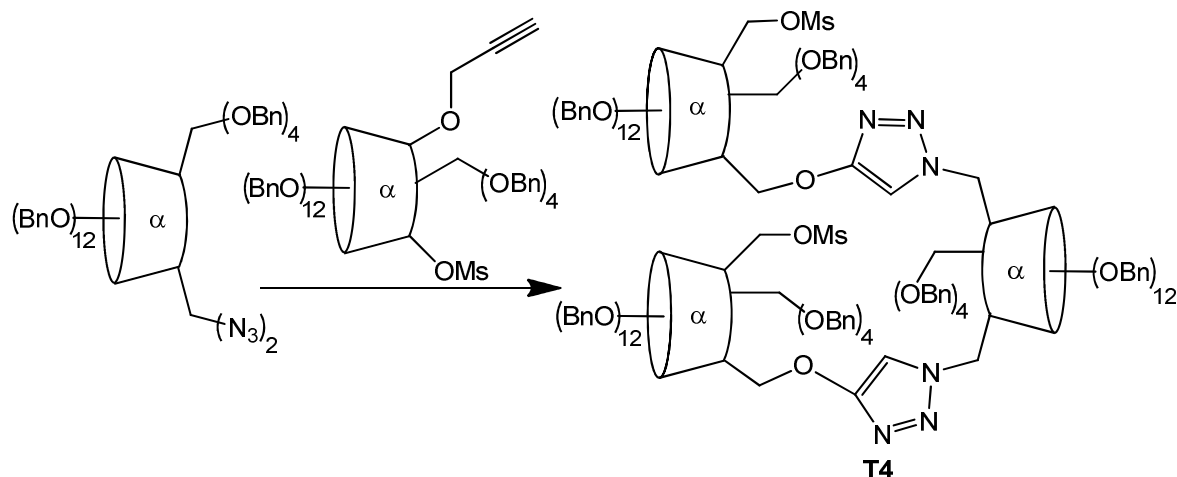


Obr. 9: Schéma přípravy trimeru T2.

Další trimer (**T3**), jehož schéma přípravy je znázorněno na obr. 10, byl syntetizován³¹ v 78% výtěžku. Reakce probíhala v DMF při 60 °C po dobu 2 dnů a byla katalyzována směsí Cu^{II}/askorbát sodný. Za stejných podmínek byl připraven další trimer (**T4**) (viz obr. 11). Výtěžek reakce byl 74 %. Účelem syntézy těchto trimerů bylo jejich možné využití jako umělých enzymů, jako součástí chemosenzorů nebo jako selektorů pro chirální separace.

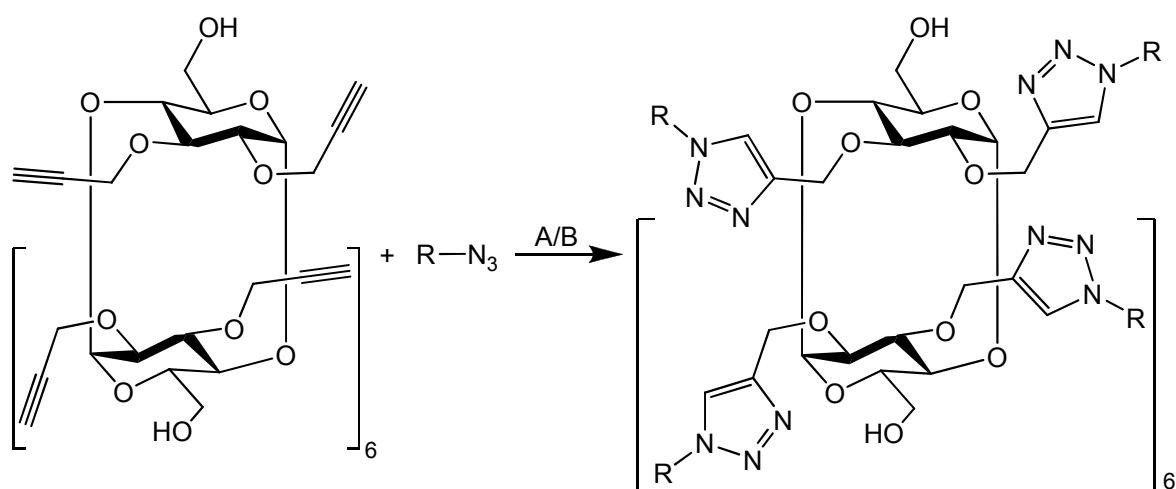


Obr. 10: Schéma přípravy trimeru T3.



Obr. 11: Schéma přípravy trimeru T4.

Reakcí tetradekakis-2^{I-VII},3^{I-VII}-*O*-propargyl- β -cyklodextrinu s různými azidovými sloučeninami vznikají další deriváty CD (viz obr. 12, tabulka 3). Reakce byly provedeny⁵¹ dvěma metodami. V metodě A byla použita směs *tert*-butanol:voda (1:1) jako rozpouštědlo a směs síran sodný/askorbát jako katalyzátor. Reakce probíhala při 70 °C. V metodě B byl rozpouštědlem aceton a katalyzátorem jodid měďný. Výtěžky a reaktanty této reakce popisuje tabulka 3. Připravené deriváty by podle autorů mohly najít uplatnění jako selektory pro chirální separace, jako umělé enzymy, jako intermediáty v supramolekulární chemii nebo by mohly rozšířit využití CD ve farmaceutickém průmyslu.



Obr. 12: Derivatizace tetradekakis-2^{I-VII},3^{I-VII}-*O*-propargyl-β-cyklodextrinu.

Tabulka 3: Výtěžky a reaktanty derivatizace tetradekakis-2^{I-VII},3^{I-VII}-*O*-propargyl-β-cyklodextrinu.

R	Reakční metoda	Výtěžek / %
	A	71
	A	94
	A	71
	A	80
	B	67
	A	68
	B	70
	B	90

Z předešlých kapitol vyplývá, že samotná chemická derivatizace CD není obtížná, problém však představuje získání chemicky čistých individuál. První možností je separace směsi náhodně substituovaných derivátů, druhou možností je regioselektivní substituce.

Propargyl deriváty γ-CD představují zatím málo probádanou oblast. Díky jejich možné derivatizaci, zvláště pomocí 1,3-dipolární cykloadice, poskytují možnost syntézy „neomezeného“ množství sloučenin, a tak přispívají k rozšíření využití CD zvláště v oblastech farmaceutického průmyslu a analytické chemie.

4. Výsledky a diskuse

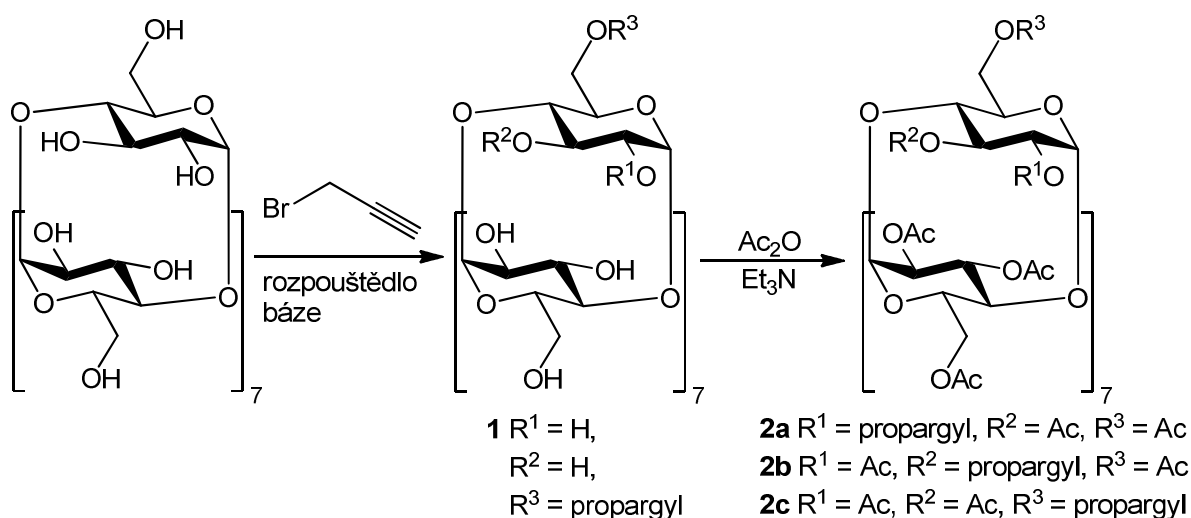
4.1. Monosubstituované propargyl deriváty γ -CD

2^1 - O , 3^1 - O a 6^1 - O -propargyl- γ -cyklodextriny byly připraveny reakcí γ -CD s propargylbromidem za různých podmínek. Touto reakcí vznikla směs nejen polohových izomerů, ale také mono- a vícesubstituovaných derivátů. Směs monosubstituovaných derivátů byla oddělena od směsi vícesubstituovaných derivátů pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází *n*-propanol:voda:ethylacetát:konc. roztok amoniaku v různých poměrech od 7:3:1 do 9:3:1. Stejně dobře se také osvědčila směs acetonitril:voda v poměru od 2:1 do 4:1. Tato separace nebyla ve většině případů na první pokus dostatečně účinná, a tak ji bylo nutno (v některých případech i několikrát) opakovat.

Jednotlivé polohové izomery se v nederivatizovaném stavu nepodařilo oddělit, a tak byly peracetylovány reakcí s acetanhydridem a triethylaminem a následně rozděleny sloupcovou chromatografií s mobilní fází chloroform:methanol v různých poměrech od 50:1 do 100:1. Výhodou peracetylovaných derivátů je snadná interpretace NMR spekter, a tedy identifikace jednotlivých polohových izomerů.

Metody propargylace byly voleny dle již publikovaných postupů (viz kapitoly 3.2.2 a 3.2.3.). Vzhledem k tomu, že byl zatím popsán²² jediný postup přípravy monosubstituovaných propargyl derivátů CD z nechráněného CD, bylo nutné využít relativní podobnosti propargyl a allyl derivátů a volit podmínky reakcí dle postupů publikovaných pro přípravu těchto derivátů, které měly uspokojivé výtěžky.

Všechny reakce probíhaly dle obecného schématu znázorněného na obr. 13 včetně následné peracetylace. Konkrétní podmínky reakcí a výtěžky shrnuje tabulka 4.



Obr. 13: Schéma propargylace γ -CD a následné peracetylace.

Tabulka 4: Propargylace γ -CD.

Metoda	Lit.	Rozp.	Báze/katalyzátor	Teplota / °C	Výtěžek ^b / %		
					2 ¹ -O	3 ¹ -O	6 ¹ -O
1	22,33	DMSO ^a	LiH/LiI	60	4	—	—
2	33,14	DMSO ^a	LiH/LiI	l. t.	—	—	—
3	35,20	H ₂ O	NaOH (50 ekv.)/-	0 → l. t.	—	—	13
4	20,36	H ₂ O, CH ₃ CN	NaOH (2 ekv.)/-	0 → l. t.	13	8	—
5	37	2,6-lutidin	2,6-lutidin/-	120→150	—	—	—
6	37	2,6-lutidin ^a	2,6-lutidin/-	150	—	—	—
7	39	2,6-lutidin, DMF	2,6-lutidin/-	150	—	—	—

^a Rozpouštědlo bylo bezvodé.^b Výtěžky jsou uváděny včetně následné peracetylce.

Pro přípravu propargyl derivátů byla nejprve použita metoda 1 (viz tabulka 4). Po oddělení jiných než monosubstituovaných derivátů a peracetylaci byl pomocí TLC prokázán vznik tří produktů (pravděpodobně všech tří polohových izomerů), z nichž se ale v dostatečné čistotě podařilo získat pouze per-*O*-acetyl-2¹-*O*-propargyl- γ -cyklodextrin ve výtěžku 4 %.

Stejná reakce byla provedena i při laboratorní teplotě (metoda 2, tabulka 4). I přes přidání trojnásobného množství propargylbromidu a katalyzátoru zreagovaly výchozí látky pouze v zanedbatelném množství.

Publikované podmínky^{35,20} reakce využívající při regioselektivní alkylationi CD v poloze 6 silně bazické prostředí byly použity pro syntézu 6¹-*O*-propargyl- γ -cyklodextrinu (metoda 3, tabulka 4). I přes komplikace při separaci monosubstituovaných derivátů od nezreagovaného CD a vícesubstituovaných derivátů se po přečištění od anorganických solí a silikagelu podařilo získat žádaný produkt (**1**) ve výtěžku 13 %.

Po peracetylaci této sloučeniny, která proběhla v 95% výtěžku, byl pomocí 2D NMR identifikován produkt jako per-*O*-acetyl-6¹-*O*-propargyl- γ -cyklodextrin (**2c**). Zároveň bylo ověřeno, že nevznikají žádné další (2¹-*O* a 3¹-*O*) polohové izomery.

Podmínky metody 4 (viz tabulka 4) byly vyzkoušeny pro reakci γ -CD a propargylbromidu. Po separaci cyklodextrinu, mono- a vícesubstituovaných derivátů CD byly monosubstituované deriváty peracetylovány a jednotlivé polohové izomery

separovány. Jako majoritní produkt byl pomocí 2D NMR identifikován 2^I-*O*-propargyl- γ -cyklodextrin (**2a**) vznikající ve 13% výtěžku. Jako další produkt byl identifikován 3^I-*O*-propargyl- γ -cyklodextrin (**2b**), který vznikal ve výtěžku 8 %.

Jelikož bylo publikováno^{37,38,39} několik prací, které popisují vznik 6^I-*O* derivátů CD ve vysokých výtěžcích (> 25 %), ve kterých zastupuje funkci rozpouštědla i báze 2,6-lutidin, byl tento postup aplikován na reakci propargylbromidu s γ -CD. Nejprve byla použita metoda 5 (viz tabulka 4), při které reakce probíhá při 120 °C. Přestože je v literatuře³⁷ popsán vznik žádaných produktů již po 3,5 hodinách, na TLC po stejně dlouhé době nebyl pozorován žádný vznik produktů reakce. Po zvýšení teploty na 150 °C a po přidání ekvivalentu propargylbromidu byla i po 2 dnech na TLC pozorována pouze skvrna výchozího γ -CD. Z důvodu možné přítomnosti vody ve 2,6-lutidinu, což by mohlo být příčinou neproběhnutí reakce, bylo rozpouštědlo predestilováno a vysušeno síty. Následně byl pokus opakován (metoda 6, tabulka 4), ale produkty reakce nebyly opět detekovány.

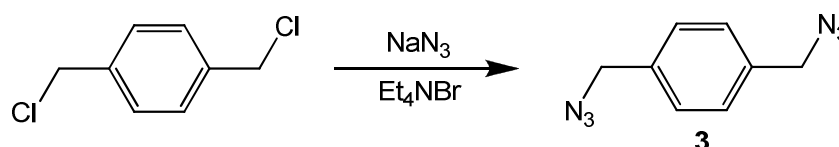
Ve výše uvedených dvou reakcích se vyskytl problém již při samotném rozpouštění CD ve 2,6-lutidinu, což mohlo způsobit nezreagování výchozích látek, a tak byl použit postup³⁹, při kterém tato reakce probíhá ve směsi 2,6-lutidin:DMF (1:1) (metoda 7, tabulka 4). V této směsi se sice CD podařilo rozpustit, ani to však nepomohlo ke vzniku propargyl derivátů γ -CD.

Důvodem neúspěšné syntézy může být fakt, že v publikovaných pracích figurovaly jako výchozí látky β -CD a deriváty aromatických sloučenin. Při těchto reakcích mohlo tedy docházet (stejně jako například při syntéze 3^I-*O*-cinnamyl- β -cyklodextrinu) ke vzniku stabilních inkluzních komplexů, v nichž reaktivní skupiny alkylačních činidel směřují v tomto případě směrem k hydroxylové skupině v poloze 6. Tento mechanismus reakce je u propargylbromidu a γ -CD nepravděpodobný.

4.2. Huisgenova 1,3-dipolární cykloadice

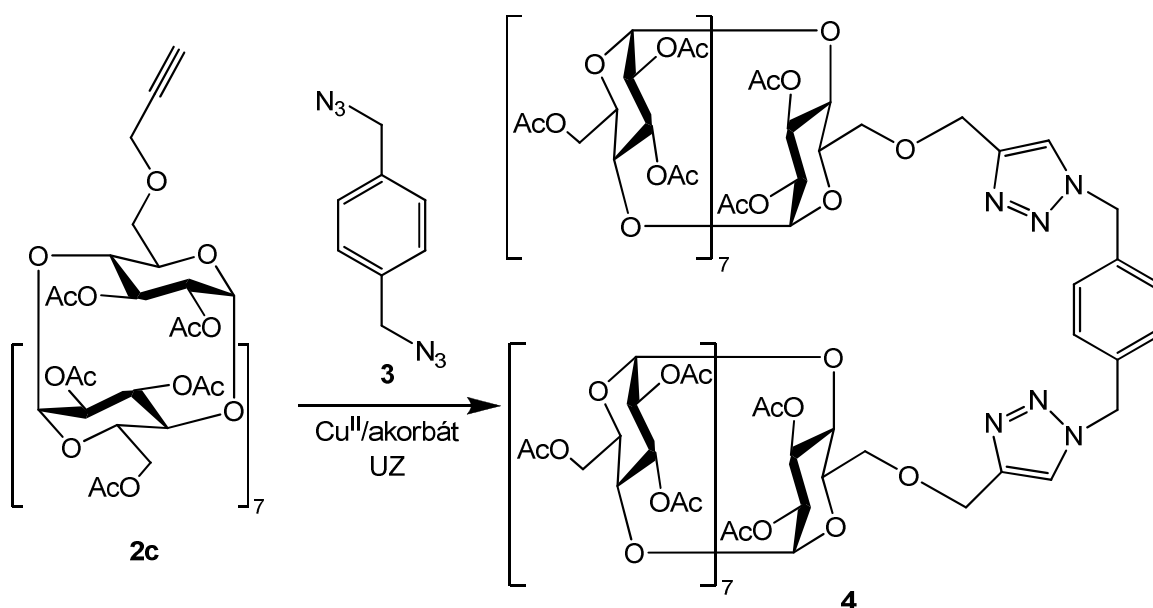
Pilotní studie reaktivity monosubstituovaných propargyl derivátů γ -CD byla provedena pomocí 1,3-dipolární cykloadice na per-*O*-acetyl-6¹-*O*-propargyl- γ -cyklodextrinu. Jako spojovací azidový můstek pro vznik dimeru byl vybrán 1,4-bis(azidomethyl)benzen.

Prvním krokem ke vzniku tohoto dimeru byla příprava 1,4-bis(azidomethyl)benzenu (**3**) (viz obr. 14). Upraveným postupem z literatury⁵² se podařilo tento produkt získat v 78% výtěžku.



Obr. 14: Schéma přípravy 1,4-bis(azidomethyl)benzenu.

Druhým krokem byla samotná syntéza dimeru (**4**) (viz obr. 15), přičemž reakční podmínky byly voleny dle literatury^{25,53} (viz kapitola 3.3.1).



Obr. 15: Schéma přípravy 1,4-bis[[4-((per-*O*-acetyl- γ -cyklodextrin-6¹-*O*-yl)-methyl)-1,2,3-triazol-1-yl]methyl]benzenu (**4**).

První přidané množství katalyzátoru odpovídalo 10 molárním % Cu^{II} vzhledem ke γ -CD a reakční směs byla zahřívána na 60 °C. Bez použití ultrazvuku (UZ) popř. mikrovln autoři popisují²⁵ vznik produktu reakce maximálně do 4 hodin. V našem případě však ani do druhého dne nebyl pomocí TLC detekován vznik jakéhokoliv produktu. Do reakční směsi byl tedy přidán nový katalyzátor, tentokrát 0,5 ekv. Cu^{II} (vzhledem k CD) a reakční směs byla na 15 minut ponořena do UZ lázně. Po dvou dnech stálého míchání se

na TLC objevila skvrna produktu, v poměru ke skvrně výchozí látky však produkt vznikl v zanedbatelném množství. Opět byl tedy přidán 0,5 ekv. katalyzátoru a reakce následně probíhala 15 minut za působení UZ a následně 2 dny při 60 °C, což se ukázalo jako dostatečné pro průběh reakce. Z reakční soustavy byly pomocí Chelatonu III odstraněny zbytky nezreagované mědi, které by mohly dimer znovu rozkládat. Dále byly pomocí sloupcové chromatografie, a to na normálním i reverzním silikagelu, odstraněny zbytky výchozích látek. Za použití 2D NMR a MS byl prokázán vznik požadovaného dimeru. V NMR spektrech se ale objevily i neidentifikované signály, což prokazuje, že se nepodařilo dosáhnout 100% čistoty produktu. Odhadovaný výtěžek reakce je 42 %.

5. Závěr

V rámci této bakalářské práce se podařilo připravit kompletní sadu 2¹-*O*-, 3¹-*O*- a 6¹-*O*-propargyl- γ -cyklodextrinů. Pro syntézu těchto látek bylo vyzkoušeno několik metod přípravy. Nejvyšších výtěžků dosahovaly syntézy 2¹-*O* a 6¹-*O* derivátů, v obou případech 13 %. Jako hlavní komplikace se ukázala samotná separace směsi vzniklých mono- a vícesubstituovaných derivátů a polohových izomerů. Ideálním řešením pro zvýšení výtěžků reakce by tedy bylo vyvinutí lepších separačních podmínek.

Byla provedena pilotní studie reaktivity monosubstituovaných propargyl derivátů γ -cyklodextrinu. Huisgenovou 1,3-dipolární cykloadicí („click reakcí“) byl z per-*O*-acetyl-6¹-*O*-propargyl- γ -cyklodextrinu a 1,4-bis(azidomethyl)benzenu připraven 1,4-bis{[4-((per-*O*-acetyl- γ -cyklodextrin-6¹-*O*-yl)-methyl)-1,2,3-triazol-1-yl]methyl}benzen ve výtěžku 42 %.

Všechny připravené sloučeniny se podařilo jednoznačně identifikovat pomocí 2D NMR spekter.

6. Experimentální část

6.1. Použité přístroje a chemikálie

Běžné chemikálie a rozpouštědla používaná pro reakce byly zakoupeny od firmy PENTA. Speciální chemikálie a rozpouštědla používaná pro reakce byly zakoupeny od firmy Aldrich. γ -CD byl zakoupen od firmy WAKO Chemicals. Rozpouštědla byla před použitím predestilována. Pro práci v inertní atmosféře byl používán argon.

Sloupcová chromatografie byla prováděna na silikagelu 60 (0,040–0,063 mm), popř. na reverzním silikagelu LiChroprep RP-18. Tenkovrstevná chromatografie byla prováděna na aluminiových destičkách s vrstvou silikagelu 60 F₂₅₄, popř. s reverzním silikagelem 60 RP-18 F₂₅₄S. Všechny silikagely byly zakoupeny od firmy Merck. Detekce TLC byla prováděna pomocí UV lampy ($\lambda = 254$ nm) a karbonizací – zahřátím horkovzdušnou pistolí po ponoření do 50% H₂SO₄.

NMR spektra byla měřena na spektrometru Bruker AVANCE III 600 ($\nu(^1\text{H}) = 600,17$ MHz, $\nu(^{13}\text{C}) = 150,04$ MHz). Ve výpisech NMR spekter byly příslušné atomy číslovány tak, jak znázorňuje obr. 16. Chemické posuny (δ) jsou uvedeny v hodnotách ppm a interakční konstanty (J) v Hz. Pro přehlednost jsou ve výpisech použity tečky místo desetinných čárek. Kromě klasických ^1H a ^{13}C NMR spekter byla měřena také APT a 2D NMR spektra – ^1H - ^1H COSY, HSQC a HMBC.

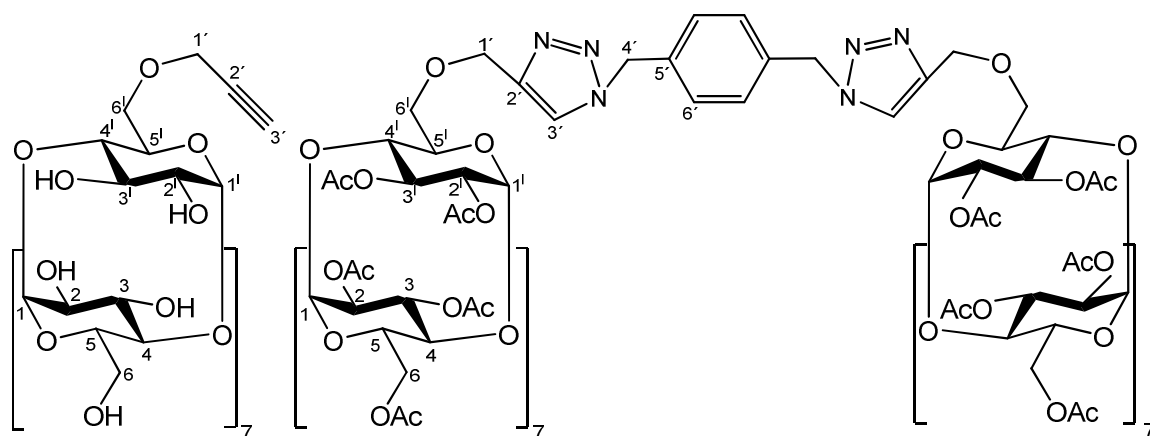
Hmotnostní spektra byla měřena na spektrometru Bruker UltrafleXtreme. Matricí byla kyselina α -kyano-4-hydroxyskořicová.

IR spektra byla měřena v KBr na spektrometru Hermo Nicolet AVATAR 370 FT-IR. Hodnoty vlnočtu ($\tilde{\nu}$) jsou uvedeny v jednotkách cm^{-1} .

Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku.

Specifické rotace byly měřeny při 20 °C a koncentraci látek 10 g dm⁻³ na polarimetru Rudolph Research AUTOPOL[®] III při 589 nm (vlnová délka sodíkového dubletu) a jsou uváděny v jednotkách 10⁻¹ cm² g⁻¹.

Všechny látky byly před charakterizací sušeny ve vakuu (10 Pa) při 85 °C 6 hodin.



Obr. 16: Číslování atomů použité ve výpisech NMR spekter propargyl derivátů a dimeru (4).

6.2. Pracovní postupy

6¹-O-propargyl- γ -cyklodextrin (**1**)

Sloučenina **1** byla připravena upraveným postupem podle literatury³⁵ γ -cyklodextrin (2 g, 1,34 mmol) byl rozpuštěn ve vodném roztoku NaOH (10 ml, 80 mmol) pomocí UZ. Směs byla ochlazená soustavou voda-led na 0 °C. Do roztoku byl přidán propargylbromid (0,245 ml, 80% roztok v toluenu, 2,32 mmol) a reakční směs byla ještě 15 minut chlazená. Nažloutlá olejovitá reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (mobilní fáze *n*-PrOH:H₂O:EtOAc:konc. roztok NH₃ = 6:3:1:1). Reakce byla ukončena po 4 dnech (kdy už nebyl zaznamenán přírůstek množství monosubstituovaných derivátů) přidávkou 50% H₂SO₄ do neutrálního pH. Byl pozorován vznik bílého zakalení roztoku a na hladině vytvoření bíložluté pěny. Nezreagovaný γ -CD a produkty reakce byly vysráženy acetonem (250 ml), filtrovány přes fritu S3 a promyty opět acetonem (200 ml). Směs byla naadsorbována na silikagel (10 g) a přečištěna sloupcovou chromatografií na 170 g silikagelu (mobilní fáze *n*-PrOH:H₂O:konc. roztok NH₃ s gradientem od 8:3:1 do 7:3:1). Produkt se nepodařilo získat v čisté formě, a tak byl znovu přečištěn sloupcovou chromatografií na 150 g silikagelu (mobilní fáze *n*-PrOH:H₂O:konc. roztok NH₃ = 9:3:1).

Produkt byl po odpaření na RVO rozpuštěn v 30 ml vody a povařen, aby došlo k odstranění silikagelu. Vzniklý roztok se sraženinou byl zfiltrován přes S4 fritu a filtrát byl znovu odpařen. Vzniklý odparek byl rekrystalizován z vody (1 ml) a ochlazen na 4 °C přes noc. Ve vzorku byl pozorován vznik bílých krystalků anorganických látek a nažloutlé viskózní hmoty sloučeniny **1**. Obě části byly odděleny a odpařeny na RVO. Tímto postupem se podařilo získat 274 mg sloučeniny **1** (13 %).

t_f (> 200 °C) rozklad. $[\alpha]_D^{20} = +67,4^\circ$ (H₂O). ¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ = 5.17 (d, 1 H, H-1), 5.15–5.10 (m, 7 H, 7 \times H-1), 4.31 (dd, J = 15.8, 1.9 Hz, 1 H, H-1'), 4.25 (dd, J = 15.8, 1.8 Hz, 1 H, H-1'), 4.04–3.56 (m, 48 H, 8 \times H-2, 8 \times H-3, 8 \times H-4, 8 \times H-5, 16 \times H-6), 2.93 (s, 1 H, H-3') ppm. ¹³C NMR (150 MHz, D₂O): δ = 103.61–103.47 (6 \times C-1), 103.28 (C-1), 102.96 (C-1), 82.43–71.69 (8 \times C-2, 8 \times C-3, 8 \times C-4, 8 \times C-5), 81.39 (C-2'), 78.05 (C-3'), 70.27 (C-6'), 62.21–62.16 (7 \times C-6), 60.22 (C-1') ppm. IR (drift KBr): $\tilde{\nu}$ = 1108, 1078, 1027, 614 cm⁻¹. HRMS (MALDI): $[M+Na]^+ = 1357,4275$. Pro C₅₁H₈₂O₄₀Na vypočteno 1357,4280.

Per-*O*-acetyl-2¹-*O*-propargyl- γ -cyklodextrin (**2a**)

Sloučenina **2a** byla připravena upraveným postupem podle literatury³³. γ -cyklodextrin (1,15 g, 0,77 mmol) byl rozpuštěn v H₂O (24 ml) a acetonitrilu (8 ml). Směs byla soustavou voda-led ochlazená na 0 °C. Do roztoku byl přidán propargylbromid (85 μ l, 0,77 mmol) rozpuštěný v acetonitrilu (0,5 ml) a po 5 minutách také vodný roztok NaOH (0,2 ml, 1,4 mmol). Reakce probíhala při laboratorní teplotě za stálého míchání, byla sledována pomocí TLC (mobilní fáze *n*-PrOH:H₂O:EtOAc:konc. roztok NH₃ = 6:3:1:1) a druhý den ukončena přidávkem 50% H₂SO₄ do neutrálního pH. Nezareagovaný γ -CD a produkty reakce byly vysráženy acetonem (500 ml), filtrovány přes fritu S3 a promyty opět acetonem (200 ml). Směs byla naadsorbována na silikagel (10 g) a přečištěna sloupcovou chromatografií na 120 g silikagelu (mobilní fáze CH₃CN:H₂O s gradientem od 4:1 do 2:1). Monosubstituované deriváty nebyly získány v dostatečné čistotě, a tak byly ještě přečištěny sloupcovou chromatografií na 100 g silikagelu (mobilní fáze *n*-PrOH:H₂O:konc. roztok NH₃ = 7:3:1). Získané monosubstituované deriváty byly peracetylovány pomocí acetanhydridu (1,5 ml, 16,0 mmol) a triethylaminu (1,5 ml, 10,9 mmol). Peracetylace probíhala při 80 °C za stálého míchání přes noc. Reakční směs byla naředěna 100 ml CHCl₃ a vytřepána HCl (5%) (2 \times po 100 ml). Chloroformové extrakty byly odpařeny na RVO. Hnědý odparek byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie na 50 g silikagelu (mobilní fáze CHCl₃:MeOH = s gradientem od 100:1 do 50:1). Tímto postupem bylo získáno 256 mg sloučeniny **2a** (13 %).

$t_f = 146\text{--}148$ °C. $[\alpha]_D^{20} = +115,8^\circ$ (CHCl₃). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.38\text{--}5.25$ (m, 8 H, 8 \times H-3), 5.15 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, H-1), 5.13 (d, $J = 3.5$ Hz, 2 H, 2 \times H-1), 5.12 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H, H-1), 5.11 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, H-1), 5.09 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, H-1), 5.08 (d, $J = 3.7$ Hz, 1 H, H-1), 4.99 (d, $J = 3.4$ Hz, 1 H, H-1¹), 4.76–4.68 (m, 7 H, 7 \times H-2), 4.58–3.94 (m, 26 H, 2 \times H-1', 8 \times H-5, 16 \times H-6), 3.74–3.62 (m, 8 H, 8 \times H-4), 3.48 (dd, $J = 10.0, 3.4$ Hz, 1 H, H-2¹), 2.44 (t, $J = 2.3$ Hz, 1 H, H-3'), 2.12–1.99 (m, 69 H, 23 \times CH₃) ppm. ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.91\text{--}169.06$ (23 \times C=O), 98.50 (C-1¹), 96.68 (C-1), 96.52 (C-1), 96.40 (C-1), 96.25 (C-1), 96.21 (C-1), 96.19 (C-1), 96.12 (C-1), 79.48 (C-2'), 78.43–69.12 (8 \times C-2, 8 \times C-3, 8 \times C-4, 8 \times C-5), 75.22 (C-3'), 62.79 (C-6), 62.62 (C-6), 62.61 (C-6), 62.47 (2 \times C-6), 62.42 (C-6), 62.39 (C-6), 62.37 (C-6), 58.43 (C-1'), 21.04–20.67 (23 \times CH₃) ppm. IR (drift KBr): $\tilde{\nu} = 1748, 1368, 1239, 1042$ cm⁻¹. HRMS (MALDI): $[M+Na]^+ = 2323,6704$. Pro C₉₇H₁₂₈O₆₃Na vypočteno 2323,6710.

Per-*O*-acetyl-3^I-*O*-propargyl- γ -cyklodextrin (2b)

Postupem pro přípravu sloučeniny **2a** bylo připraveno také 154 mg sloučeniny **2b** (8 %) jako vedlejšího produktu.

$t_i = 143\text{--}146\text{ }^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_D^{20} = +126,1^{\circ}$ (CHCl₃). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.48$ (t, $J = 9.6$ Hz, 1 H, H-3), 5.40–5.24 (m, 6 H, 6 \times H-3), 5.16 (d, $J = 3.5$ Hz, 1 H, H-1), 5.16 (d, $J = 3.9$ Hz, 1 H, H-1), 5.15 (d, $J = 4.1$ Hz, 1 H, H-1), 5.12 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H, H-1), 5.10 (d, $J = 3.6$ Hz, 2 H, 2 \times H-1), 5.09 (d, $J = 3.5$ Hz, 1 H, H-1), 5.05 (d, $J = 3.5$ Hz, 1 H, H-1), 4.76–4.61 (m, 8 H, 8 \times H-2), 4.58–3.93 (m, 25 H, 2 \times H-1', 7 \times H-5, 16 \times H-6), 3.88 (t, $J = 9.5$ Hz, 1 H, H-3^I), 3.82–3.60 (m, 8 H, H-5^I, 7 \times H-4), 3.52 (t, $J = 9.3$ Hz, 1 H, H-4^I), 2.63–2.60 (m, 1 H, H-3'), 2.17–2.00 (m, 69 H, 23 \times CH₃) ppm. ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): $\delta = 171.00\text{--}169.30$ (23 \times C=O), 97.64 (C-1), 96.61 (C-1), 96.38 (C-1), 96.29 (C-1, C-1^I), 96.19 (C-1), 96.10 (C-1), 96.08 (C-1), 80.65 (C-4^I), 80.28 (C-2'), 77.21–69.31 (8 \times C-2, 7 \times C-3, 7 \times C-4, 7 \times C-5), 76.92 (C-3^I), 75.05 (C-3'), 71.74 (C-2), 70.21 (C-5^I), 62.60 (C-6), 62.53 (C-6), 62.51 (C-6), 62.48 (C-6), 62.35 (C-6^I), 62.28 (C-6), 62.26 (C-6), 62.18 (C-6), 61.19 (C-1'), 21.16–20.67 (23 \times CH₃) ppm. IR (drift KBr): $\tilde{\nu} = 1751, 1368, 1242, 1045\text{ cm}^{-1}$. HRMS (MALDI): $[M+Na]^+ = 2323,6704$. Pro C₉₇H₁₂₈O₆₃Na vypočteno 2323,6710.

Per-*O*-acetyl-6^I-*O*-propargyl- γ -cyklodextrin (2c)

Sloučenina **1** (274 mg, 0,21 mmol) byla peracetylována pomocí acetanhydridu (5 ml, 52,8 mmol) a triethylaminu (5 ml, 36,1 mmol). Acetylace probíhala při 80 $^{\circ}\text{C}$ za stálého míchání přes noc. Reakční směs byla naředěna 100 ml CHCl₃ a vytřepána HCl (5%) (2 \times po 100 ml). Chloroformové extrakty byly odpařeny na RVO. Hnědý odparek byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie na 75 g silikagelu (mobilní fáze CHCl₃:MeOH s gradientem od 100:1 do 80:1). Tímto postupem bylo získáno 448 mg sloučeniny **2c** (95 %).

$t_i = 147\text{--}149\text{ }^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_D^{20} = +134,8^{\circ}$ (CHCl₃). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.38\text{--}5.27$ (m, 8 H, 8 \times H-3), 5.19 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, H-1), 5.14 (d, $J = 3.9$ Hz, 1 H, H-1), 5.12 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, H-1), 5.12 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, H-1), 5.11 (d, $J = 3.7$ Hz, 2 H, 2 \times H-1), 5.09 (d, $J = 3.9$ Hz, 1 H, H-1), 5.08 (d, $J = 3.8$ Hz, 1 H, H-1), 4.76–4.69 (m, 8 H, 8 \times H-2), 4.59–3.63 (m, 32 H, 8 \times H-4, 8 \times H-5, 16 \times H-6), 4.20 (dd, $J = 15.9, 2.3$ Hz, 1 H, H-1'), 4.16 (dd, $J = 15.9, 2.3$ Hz, 1 H, H-1'), 2.48 (t, $J = 2.3$ Hz, 1 H, H-3'), 2.13–2.01 (m, 69 H, 23 \times CH₃) ppm. ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.73\text{--}169.31$ (23 \times C=O), 96.43 (C-1), 96.36 (C-1), 96.33 (C-1), 96.25 (C-1), 96.20 (2 \times C-1), 96.18

(C-1), 96.16 (C-1), 79.00 (C-2'), 77.20–69.45 ($8 \times$ C-2, $8 \times$ C-3, $8 \times$ C-4, $8 \times$ C-5), 75.40 (C-3'), 67.54 (C-6^l), 62.58 ($2 \times$ C-6), 62.53 (C-6), 62.51 (C-6), 62.43 ($2 \times$ C-6), 62.40 (C-6), 58.67 (C-1'), 20.80–20.71 ($23 \times$ CH₃) ppm. IR (drift KBr): $\tilde{\nu}$ = 1748, 1371, 1239, 1042 cm⁻¹. HRMS (MALDI): [M+Na]⁺ = 2323,6704. Pro C₉₇H₁₂₈O₆₃Na vypočteno 2323,6710.

1,4-bis(azidomethyl)benzen (3)

Sloučenina **3** byla připravena upraveným postupem podle literatury⁵². Směs 1,4-bis(chlormethyl)benzenu (200 mg, 1,14 mmol), azidu sodného (221 mg, 3,40 mmol) a tetraethylamoniumbromidu (10 mg, 48 μmol) byla míchána při 130 °C 2 dny. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (mobilní fáze toluen:EtOAc = 10:1). Pro odstranění vzniklých žlutých krystalů byla žlutá olejovitá kapalina rozpuštěna v bezvodém etheru a zfiltrována přes vat. Filtrát byl odpařen na RVO a naředěn 5 ml CHCl₃ a vytřepán vodou (1 × 5 ml). Chloroformový extrakt byl odpařen. Tímto postupem bylo získáno 156 mg sloučeniny **3** ve formě žluté olejovité kapaliny (78 %).

Spektrální data byla shodná s literaturou⁵².

1,4-bis{[4-((per-*O*-acetyl- γ -cyklodextrin-6^l-*O*-yl)-methyl)-1,2,3-triazol-1-yl]methyl}benzen (4)

Sloučenina **4** byla připravena upraveným postupem podle literatury⁵³. Ke sloučenině **2c** (30,5 mg, 13 μmol) byla přidána sloučenina **3** (1,2 mg, 6 μmol) rozpuštěná v THF (1,3 ml) a směs askorbátu sodného (0,3 mg, 1,5 μmol) a CuSO₄ · 5 H₂O (0,2 mg, 0,8 μmol) ve vodě (1,3 ml). Reakční směs byla nejprve zahřívána 1 hodinu při stálém míchání na 60 °C, poté byla při laboratorní teplotě míchána přes noc. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (mobilní fáze CHCl₃:H₂O = 20:1). Z důvodu nepřítomnosti produktu reakce byla do reakční směsi znovu přidána směs askorbátu sodného (1,4 mg, 7,1 μmol) a CuSO₄ · 5 H₂O (0,8 mg, 3,2 μmol) ve vodě (0,1 ml). Reakční směs byla ponořena na 15 minut do UZ lázně a následně míchána 2 dny za laboratorní teploty. Z důvodu nedostatečného zreagování výchozích látek byla přidána směs askorbátu sodného (1,3 mg, 6,6 μmol) a CuSO₄ · 5 H₂O (0,8 mg, 3,2 μmol) ve vodě (0,1 ml). Reakční směs byla ponořena na 15 minut do UZ lázně, následně míchána 2 dny při 60 °C. Byl pozorován vznik emulze žluté olejovité kapaliny ve vodném roztoku. Reakční směs byla naředěna 10 ml CHCl₃ a intenzivně vytřepána vodou (1 × 10 ml). Chloroformový extrakt byl poté třepán s roztokem Chelatonu III (50 mg, 134 μmol) ve vodě (10 ml). Organická

vrstva byla odpařena na RVO a přečištěna pomocí sloupcové chromatografie na 5 g silikagelu (mobilní fáze EtOAc:toluen = 100:1). Vzniklý produkt se nepodařilo získat v požadované čistotě, a tak byl naadsorbován na 0,2 g silikagelu RP-18 a přečištěn pomocí reverzní sloupcové chromatografie na 5 g silikagelu RP-18 (mobilní fáze MeOH:H₂O = 5:1). Frakce s produktem byly odpařeny na RVO, rozpuštěny v CHCl₃ (20 ml) a přefiltrovány přes filtrační nástavec na injekční stříkačku. Tímto postupem se podařilo připravit 13 mg sloučeniny **4** (42 %).

$t_f = 150\text{--}152\text{ }^\circ\text{C}$. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.77$ (s, 2 H, 2 \times H-3'), 7.34 (s, 4 H, 4 \times H-6'), 5.55 (s, 4 H, 4 \times H-4'), 5.39–5.27 (m, 16 H, 16 \times H-3), 5.17–5.11 (m, 12 H, 12 \times H-1), 5.09 (d, $J = 3.8$ Hz, 2 H, 2 \times H-1), 5.08 (d, $J = 3.7$ Hz, 2 H, 2 \times H-1), 4.79–4.60 (m, 20 H, 16 \times H-2, 4 \times H-1'), 4.54–3.63 (m, 64 H, 16 \times H-4, 16 \times H-5, 32 \times H-6), 2.12–2.02 (m, 138 H, 46 \times CH₃) ppm. ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.79\text{--}169.32$ (46 \times C=O), 144.21 (2 \times C-2'), 135.02 (2 \times C-5'), 129.04 (4 \times C-6'), 123.92 (2 \times C-3'), 96.49 (2 \times C-1), 96.39 (2 \times C-1), 96.30 (2 \times C-1), 96.24 (4 \times C-1), 96.21 (2 \times C-1), 96.16 (2 \times C-1), 96.13 (2 \times C-1), 77.20–69.40 (16 \times C-2, 16 \times C-3, 16 \times C-4, 16 \times C-5), 68.44 (2 \times C-6^I), 64.23 (2 \times C-1'), 62.69–62.38 (14 \times C-6), 54.34 (2 \times C-4'), 20.90–20.73 (46 \times CH₃) ppm. HRMS (MALDI): $[M+Na]^+ = 4812,4463$. Pro C₂₀₂H₂₆₄N₆O₁₂₆Na vypočteno 4813,4333.

Seznam literatury

- 1 Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1743–1754.
- 2 Hedges, A. R. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 2035–2044.
- 3 Kraus T. *Cyklodextriny. Supramolekulární chemie I*, UOCHB AVČR, Praha, 2004.
Dostupné z URL <http://www.uochb.cas.cz/Zpravy/PostGrad2004/8_Kraus.pdf>
[cit. 14.12.2011]
- 4 Hashimoto, H. *J. Incl. Phenom. Macro.* **2002**, 44, 57–62.
- 5 Cucinotta, V.; Contino, A.; Giuffrida, A.; Maccarrone, G.; Messina, M. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 953–967.
- 6 Bjerre, J.; Rousseau, C.; Marinescu, L.; Bols, M. *Appl. Microbiol. Biot.* **2008**, 81, 1–11.
- 7 Ogoshi, T.; Harada, A. *Sensors* **2008**, 8, 4961–4982.
- 8 Villiers, A. *Compt. Rend.* **1891**, 112, 536–538.
- 9 Schardinger, F. Z. *Unters. Nahr. Genussm.* **1903**, 6, 865–880.
- 10 Freudenberg, K.; Meyer-Delius, M. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1938**, 71, 1596–1600.
- 11 Li, S.; Purdy, W. C. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1457–1470.
- 12 Dostupné z URL <<http://what-when-how.com/molecular-biology/cyclodextrins-molecular-biology/>> [cit. 10.12.2011]
- 13 Easton C. J., Linclon S. F. *Modified Cyclodextrins: Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry*, Imperial College Press, London, 1999.
- 14 Řezanka, M. Disertační práce, Univerzita Karlova, Praha 2012.
- 15 Jindřich, J. Habilitační práce, Univerzita Karlova, Praha 2005
- 16 Dostupné z URL <<http://www.hpcl.cz/Chiral/index.htm>> [cit. 26.3.2012]
- 17 Wenz, G.; Han, B.-H.; Müller, A. *Chem. Rev.* **2006**, 106, 782–817.
- 18 Harada, A.; Hashidzume, A.; Yamaguchi, H.; Takashima, Y. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 5974–6023.
- 19 Shpigun, O. A.; Ananieva, I. A.; Budanova, N. Y.; Shapovalova E. N. *Russ. Chem. Rev.* **2003**, 72, 1035–1054.
- 20 Jindřich; Tišlerová, I. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 9054–9055.
- 21 Rousseau, C.; Christensen, B.; Petersen, T. E.; Bols, M. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 3476–3482.
- 22 Casas-Solvas, J. M.; Vargas-Berenguel, A. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 6778–6780.

- 23 Barge, A.; Cravotto, G.; Robaldo, B.; Gianolio, E.; Aime, S. *J. Incl. Phenom. Macro.* **2007**, *57*, 489–495.
- 24 Trotta, F.; Martina, K.; Robaldo, B.; Barge, A.; Cravotto, G. *J. Incl. Phenom. Macro.* **2007**, *57*, 3–7.
- 25 Cintas, P.; Martina, K.; Robaldo, B.; Garella, D.; Boffa, L.; Cravotto, G. *Collect. Czech. Chem. C.* **2007**, *72*, 1014–1024.
- 26 Cravotto, G.; Mendicuti, F.; Martina, K.; Tagliapietra, S.; Robaldo, B.; Barge, A. *Synlett* **2008**, *2008*, 2642–2646.
- 27 Aime, S.; Gianolio, E.; Arena, F.; Barge, A.; Martina, K.; Heropoulos, G.; Cravotto, G. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 370–379.
- 28 Aime, S.; Gianolio, E.; Palmisano, G.; Robaldo, B.; Barge, A.; Boffa, L.; Cravotto, G. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1124–1130.
- 29 Faiz, J. A.; Spencer, N.; Pikramenou, Z. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 4239.
- 30 Christensen, H. S.; Sigurskjold, B. W.; Frihed, T. G.; Marinescu, L. G.; Pedersen, C. M.; Bols, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 5279–5290.
- 31 Rawal, G. K.; Zhang, P.; Ling, C.-C. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3096–3099.
- 32 Bistri, O.; Lecourt, T.; Mallet, J.-M.; Sollogoub, M.; Sinaÿ, P. *Chem. Biodivers.* **2004**, *1*, 129–137.
- 33 Hanessian, S.; Benalil, A.; Laferriere, C. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4786–4797.
- 34 Tojima, T. *Carbohydr. Polym.* **1999**, *40*, 17–22.
- 35 Řezanka, M.; Eignerová, B.; Jindřich, J.; Kotora, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010*, 6256–6262.
- 36 Řezanka, M.; Jindřich, J. *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 2374–2379.
- 37 Tian, S.; Zhu, H.; Forgo, P.; D’Souza, V. T. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2624–2630.
- 38 Balan, B.; Gopidas, K. R. *Chem.-Eur. J.* **2006**, *12*, 6701–6710.
- 39 Balan, B.; Gopidas, K. R. *Chem.-Eur. J.* **2007**, *13*, 5173–5185.
- 40 Huisgen R. *1,3-Dipolar cycloaddition - introduction, survey, mechanism*; Wiley, New York, 1984.
- 41 Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2001**, *40*, 2004–2021.
- 42 Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2002**, *41*, 2596–2599.
- 43 Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 1128–1137.
- 44 Tron, G. C.; Pirali, T.; Billington, R. A.; Canonico, P. L.; Sorba, G.; Genazzani, A.

- A. Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278–308.
- 45 Guo, Z.; Lei, A.; Zhang, Y.; Xu, Q.; Xue, X.; Zhang, F.; Liang, X. *Chem. Commun.* **2007**, 2491–2493.
- 46 Guo, Z.; Jin, Y.; Liang, T.; Liu, Y.; Xu, Q.; Liang, X.; Lei, A. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 257–263.
- 47 Yhaya, F.; Lim, J.; Kim, Y.; Liang, M.; Gregory, A. M.; Stenzel, M. H. *Macromolecules* **2011**, *44*, 8433–8445.
- 48 Maisonneuve, S.; Fang, Q.; Xie, J. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8716–8720.
- 49 Trellenkamp, T.; Ritter, H. *Macromolecules* **2010**, *43*, 5538–5543.
- 50 Pérez-Balderas, F.; Ortega-Muñoz, M.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernández-Mateo, F.; Calvo-Flores, F. G.; Calvo-Asín, J. A.; Isac-García, J.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1951–1954.
- 51 Ward, S.; Ling, C.-C. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *14*, 4853–4861.
- 52 Zhang, G.; Fang, L.; Zhu, L.; Sun, D.; Wang, P. G. *Bioorgan. Med. Chem.* **2006**, *14*, 426–434.
- 53 Bryson, J. M.; Chu, W.-J.; Lee, J.-H.; Reineke, T. M. *Boconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1505–1509.